# BD BBL UROTUBE 2s • BBL UROTUBE • BBL UROTUBE M • BBL UROTUBE E • BBL UROTUBE E. coli • BBL UROTUBE SXT

## APPLICATION

Les produits **BBL UROTUBE** sont des lames immergées utilisées pour l'isolement et la détermination du compte de colonies de microorganismes isolés à partir d'échantillons d'urine. Les surfaces des lames immergées sont recouvertes avec deux ou trois milieux de culture différents. Tous les produits **BBL UROTUBE** contiennent une CLED Agar pour l'énumération complète des bactéries et/ou des levures, et une MacConkey Agar pour la détection de bactéries à Gram négatif, p. ex. *Enterobacteriaceae*. Le troisième milieu, s'il est disponible, dépend du produit correspondant.

## PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.
De nos jours, l'utilisation de lames immergées en tant que technique de dépistage pour l'énumération et l'isolement de microorganismes à partir d'échantillons d'urine de routine est courante.[1-5] La lame est immergée dans un échantillon d'urine frais et correctement prélevé et incubée, puis le nombre de colonies observées sur la surface de la CLED Agar est comparé à une photographie de référence. La CLED Agar a été élaborée par Sandys en 1960, afin d'empêcher l'essaimage de *Proteus* par la réduction du taux d'électrolytes dans le milieu de culture. La préparation a été modifiée à plusieurs reprises par la suite, en vue de son utilisation en uroculture.[6] Il a été rapporté que ce milieu, appelé Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (CLED), est idéal pour les techniques de la lame immergée, et pour la bactériologie urinaire en général.[6,7]
Les éléments nutritifs de la CLED Agar sont fournis par les peptones de gélatine et de caséine ainsi que par l'extrait de bœuf. Le lactose incorporé dans cette gélose fournit une source d'énergie aux microorganismes qui sont capables de le métaboliser et déclenchent alors un processus de fermentation. Le bleu de bromothymol est utilisé comme indicateur de pH pour différencier les fermentants des non-fermentants du lactose. Les microorganismes qui fermentent le lactose provoquent une diminution du pH et font passer la couleur du milieu de vert à jaune. La cystine permet la croissance de coliformes de « colonie naine ».[3] Les sources d'électrolyte sont limitées afin de réduire au maximum l'essaimage des *Proteus* spp. Le nombre de colonies présentes sur la CLED Agar est directement proportionnel au nombre de bactéries par mL contenues dans l'échantillon d'urine.
La CLED Agar est incluse sur toutes les lames immergées appartenant à la gamme **BBL UROTUBE** en tant que **milieu 1**.

Le second milieu est une MacConkey Agar. Il est seulement légèrement sélectif car la concentration de sels biliaires, qui inhibe les microorganismes à Gram positif, est faible par comparaison avec d'autres milieux d'étalement entériques. Ce milieu est recommandé pour les échantillons cliniques susceptibles de contenir un mélange de flores microbiennes, tels que l'urine, car il autorise un groupement préliminaire des bactéries entériques et de nombreuses autres bactéries à Gram négatif dans les fermentants et non-fermentants du lactose.[8,9]
Dans la MacConkey Agar, les peptones apportent les nutriments nécessaires. Le cristal violet inhibe les bactéries à Gram positif, en particulier les entérocoques et les staphylocoques. Les microorganismes entériques sont différenciés par l'association du lactose et de l'indicateur de pH au rouge neutre. Les colonies sont incolores ou de couleur rose à rouge, selon la capacité de l'isolat à fermenter ou non l'hydrate de carbone.
La MacConkey Agar est incluse sur tous les produits de type lame immergée **BBL UROTUBE** en tant que **milieu 2**.

Le **BBL UROTUBE 2S** comporte deux faces et contient uniquement des géloses CLED et MacConkey.

Un troisième milieu est inclus sur les surfaces de toutes les lames immergées à trois faces, afin de détecter la présence de groupes bactériens et de levures caractéristiques. Le type de milieu dépend du produit en cours d'utilisation :

En plus des milieux 1 et 2 mentionnés ci-dessus, le **BBL UROTUBE** contient une Cetrimide Agar, milieu couramment utilisé pour l'isolement sélectif de *Pseudomonas aeruginosa.*[10,11] La peptone de gélatine et de caséine fournit les nutriments nécessaires. Les sels de potassium et de magnésium stimulent la formation de pigment de *P. aeruginosa*. Le glycérol constitue une source d'énergie et de carbone. Le bromure de cétyltrimétylammonium (cétrimide) est un détergent qui inhibe sélectivement la plupart des bâtonnets à Gram négatif autres que *P. aeruginosa.*
En plus des milieux 1 et 2 mentionnés ci-dessus, le **BBL UROTUBE M** contient une Malt Agar, milieu partiellement sélectif pour l'isolement de levures, comme *Candida albicans*. L'extrait de malt et l'acide lactique apportent les nutriments nécessaires et maintiennent le pH à un niveau faible qui fournit la sélectivité requise pour inhiber de nombreuses espèces de bactéries.[11]
En plus des milieux 1 et 2 mentionnés ci-dessus, le **BBL UROTUBE E** contient une Enterococcus Agar, milieu différentiel sélectif pour les *Enterococcus* spp.[11] Dans la Enterococcus Agar, la caséine et l'extrait de levure fournissent les éléments nutritifs. Le chlorure de sodium maintient la stabilité osmotique. La combinaison de citrate, d'azide, de kanamycine, de polymyxine B, d'acide nalidixique et de néomycine inhibe la plupart des bactéries autres que les *Enterococcus* spp. L'esculine est un substrat pour la bêta-glucosidase, présente de manière caractéristique chez les *Enterococcus* spp. L'un des produits de l'hydrolyse enzymatique, l'esculétine, réagit aux ions ferriques en produisant un précipité brun à noir dans le milieu entourant les colonies d'*Enterococcus*.
En plus des milieux 1 et 2 mentionnés ci-dessus, le **BBL UROTUBE E. coli** contient de la Beta-Glucuronidase (=BGLU) Agar, milieu différentiel pour la détection spécifique des *E. coli* et *Proteus* spp. Il contient de la nitrophényl-ß-glucuronide, substrat chromogène permettant de détecter l'activité de la bêta-glucuronidase typiquement présente chez *Escherichia coli*, alors que de nombreuses autres bactéries, dont *Proteus, Providencia* et *Morganella*, sont négatives.[11,12] La dégradation du substrat provoque une accumulation de nitrophénol jaune dans le milieu et dans les colonies, tandis que les colonies négatives à la glucuronidase sont incolores ou grises sur un milieu incolore. La croissance jaune issue de ce milieu peut être soumise au test de l'indole, qui, s'il est positif, confirme l'identification d'*E. coli.* La formation d'indole sur ce milieu est favorisée par l'ajout du précurseur de l'indole (le tryptophane). De plus, cet aminoacide est le substrat pour l'enzyme tryptophane désaminase (TDA), présent de manière caractéristique chez *Proteus, Providencia* et *Morganella* spp. Cet enzyme peut être facilement détecté en effectuant un test de TDA avec du chlorure ferrique. Pour confirmer l'identification, il est possible de réaliser un test d'indole à partir d'échantillons issus de la croissance incolore, qui produit un résultat positif en présence de *Proteus vulgaris, Providencia* spp. et *Morganella morganii*.
En plus des milieux 1 et 2 mentionnés précédemment, le **BBL UROTUBE SXT** contient un milieu de test de sensibilité (PDM Medium) dépourvu d'antagonistes et contenant du triméthoprime/sulfaméthoxazole (SXT), pour la détermination de la résistance ou de la sensibilité vis-à-vis du SXT. La croissance d'une bactérie quelconque dans ce milieu indique une résistance au SXT.

Après l'ensemencement, ou après l'ensemencement et l'incubation, les lames immergées peuvent également être utilisées comme milieu de transport pour acheminer les échantillons du cabinet médical aux laboratoires d'analyse.
Il est possible d'utiliser la croissance issue des milieux présents sur les lames immergées pour effectuer des tests d'identification et de sensibilité sur les isolats.

## REACTIFS

Formules* par litre d'eau purifiée
Les **milieux 1 et 2** sont communs à toutes les lames immergées **BBL UROTUBE**.

| Milieu 1 : CLED Agar | |
|---|---|
| Digestion peptique de caséine | 4,0 g |
| Peptones sélectionnées | 4,0 |
| Extrait de viande | 3,0 |
| Lactose | 10,0 |
| Cystine | 0,128 |
| Bleu de bromothymol | 0,02 |
| Gélose | 15,0 |
| pH 7,3 ± 0,2 | |

| Milieu 2 : MacConkey Agar | |
|---|---|
| Digestion peptique de caséine | 17,0 g |
| Peptone de viande | 3,0 |
| Lactose | 10,0 |
| Chlorure de sodium | 5,0 |
| Mélange de sels biliaires | 1,5 |
| Rouge neutre | 0,03 |
| Cristal violet | 0,001 |
| Gélose | 13,5 |
| pH 7,1 ± 0,2 | |

**Milieu 3 :** Le type de milieu 3 (s'il est disponible) dépend du produit en cours d'utilisation (voir **PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE**).

En plus des milieux 1 et 2 mentionnés précédemment, le **BBL UROTUBE** contient une Cetrimide Agar :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Digestion peptique de gélatine | 16,0 g | Glycérol | 8,0 g |
| Caséine hydrolysée | 10,0 | Bromure de cétyltrimétylammonium | 0,3 |
| Sulfate de potassium | 10,0 | Gélose | 13,0 |
| Chlorure de magnésium | 1,4 | pH 7,1 ± 0,2 | |

En plus des milieux 1 et 2 mentionnés précédemment, le **BBL UROTUBE M** contient une Malt Agar :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Extrait de malt | 30,0 g | Gélose | 18,0 g |
| Acide lactique | 6,3 | pH 4,0 ± 0,4 | |

En plus des milieux 1 et 2 mentionnés précédemment, le **BBL UROTUBE E** contient une Enterococcus Agar :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Digestion peptique de caséine | 20,0 g | Kanamycine | 0,02 g |
| Extrait de levure | 5,0 | Polymyxine B | 0,002 |
| Chlorure de sodium | 5,0 | Acide nalidixique | 0,0075 |
| Citrate | 1,5 | Néomycine | 0,002 |
| Azide de sodium | 0,15 | Gélose | 15,0 |
| Esculine | 1,0 | pH 7,1 ± 0,2 | |
| Citrate d'ammonium ferrique | 0,5 | | |

En plus des milieux 1 et 2 mentionnés précédemment, le **BBL UROTUBE E. coli** contient une Beta-Glucuronidase (BGLU) Agar :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Peptone | 10,0 g | Chlorure de sodium | 5,0 g |
| Nitrophényl-ß-glucuronide | 0,1 | Gélose | 15,0 |
| Tryptophane | 0,3 | pH 7,2 ± 0,2 | |

En plus des milieux 1 et 2 mentionnés précédemment, le **BBL UROTUBE SXT** contient un milieu dépourvu d'antagonistes (PDM Medium), avec du triméthoprime/sulfaméthoxazole (SXT).

| | | | |
|---|---|---|---|
| Milieu PDM | 32,3 g | Trimétoprime | 0,003 g |
| Sulfaméthoxazole | 0,04 | pH 7,3 ± 0,3 | |

*Les formules peuvent être ajustées et/ou complémentées en fonction des critères de performances imposés.

## PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de lames présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Respecter les techniques d'asepsie et les mesures de protection contre les risques biologiques tout au long de la procédure. Porter des gants de protection lors du prélèvement et de la manipulation des échantillons et des lames positives contenant des agents infectieux. Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations sur les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.
Lors de l'utilisation de ces produits en tant que milieu de transport entre un cabinet médical et un laboratoire de diagnostic, respecter la réglementation locale en vigueur concernant l'expédition d'échantillons infectieux.

## STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les produits **BBL UROTUBE** dans l'obscurité entre 15 et 20 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler, les surchauffer, les laisser se dessécher, ni les soumettre à des variations de température.
Les lames peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.
Les lames non ouvertes provenant de boîtes déjà entamées peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption indiquée, dans la mesure où elles sont conservées dans un lieu propre entre 15 et 20 °C. Une fois ouvertes, les lames doivent être utilisées immédiatement.

## CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Préparer des suspensions des souches de test mentionnées ci-dessous dans une solution saline physiologique, jusqu'à obtenir une turbidité équivalente à un standard McFarland 0,5 (environ 5 x $10^7$ UFC/mL). Diluer les suspensions jusqu'à obtention d'une valeur d'UFC comprise entre $10^4$ et $10^5$ par mL. Immerger des échantillons de lames dans cette dilution ; laisser s'écouler l'excédent de suspension et replacer les lames dans leurs tubes. Incuber entre 35 et 37 °C pendant 18 à 24 h. Examiner comme indiqué
Les résultats attendus sont présentés dans le tableau ci-dessous :

| **Produit et milieu** | **Couleur (non ensemencé)** | *Escherichia coli* ATCC 25922 | *Proteus mirabilis* ATCC 12453 | *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | *Candida albicans* ATCC 10231 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **BBL UROTUBE** | | | | | | |
| • Milieu 1 | jaunâtre à jaune-vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies incolores ; milieu jaune-vert à vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert ; milieu bleu-vert | + ; petites colonies blanchâtres ; milieu jaunâtre à bleu-vert |
| • Milieu 2 | rose | + ; colonies roses ; milieu rouge à rose | + ; colonies incolores à beiges ; milieu orange-marron | - | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert, avec ou sans fluorescence | - |
| • Milieu 3 | incolore à légèrement ambré | - | - | - | + ; colonies jaunâtres à bleu-vert | - |

| **Produit et milieu** | **Couleur (non ensemencé)** | *Escherichia coli* ATCC 25922 | Proteus mirabilis ATCC 12453 | *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | *Candida albicans* ATCC 10231 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **BBL UROTUBE M** | | | | | | |
| • Milieu 1 | jaunâtre à jaune-vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies incolores ; milieu jaune- | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert ; | + ; petites colonies blanchâtres ; |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | vert à vert | | milieu bleu-vert | milieu jaunâtre à bleu-vert |
| • Milieu 2 | rose | + ; colonies roses ; milieu rouge à rose | + ; colonies incolores à beiges ; milieu orange-marron | - | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert, avec ou sans fluorescence | - |
| • Milieu 3 | incolore à légèrement ambré | - | - | - | - | + ; colonies blanchâtres |
| **BBL UROTUBE E** | | | | | | |
| • Milieu 1 | jaunâtre à jaune-vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies incolores ; milieu jaune-vert à vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert ; milieu bleu-vert | + ; petites colonies blanchâtres ; milieu jaunâtre à bleu-vert |
| • Milieu 2 | rose | + ; colonies roses ; milieu rouge à rose | + ; colonies incolores à beiges ; milieu orange-marron | - | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert, avec ou sans fluorescence | - |
| • Milieu 3 | Couleur ambrée claire | - | - | + ; colonies de couleur marron à noir, milieu marron à noir | - | (+)/- |
| **BBL UROTUBE E. coli** | | | | | | |
| • Milieu 1 | jaunâtre à jaune-vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies incolores ; milieu jaune-vert à vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert ; milieu bleu-vert | + ; petites colonies blanchâtres ; milieu jaunâtre à bleu-vert |
| • Milieu 2 | rose | + ; colonies roses ; milieu rouge à rose | + ; colonies incolores à beiges ; milieu orange-marron | - | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert, avec ou sans fluorescence | - |
| • Milieu 3 | incolore à légèrement ambré | + ; milieu et colonies jaunes | + ;colonies incolores | + ; milieu et colonies jaunes | - | (+) |
| Test de l'indole[a]<br>TDA[b] | | +<br>- | -<br>+ | -<br>- | -<br>- | -<br>- |
| **BBL UROTUBE 2S** | | | | | | |
| • Milieu 1 | jaunâtre à jaune-vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies incolores ; milieu jaune-vert à vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert ; milieu bleu-vert | + ; petites colonies blanchâtres ; milieu jaunâtre à bleu-vert |
| • Milieu 2 | rose | + ; colonies roses ; milieu rouge à rose | + ; colonies incolores à beiges ; milieu orange-marron | - | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert, avec ou sans fluorescence | - |
| **Produit et milieu** | **Couleur (non ensemencé)** | *Escherichia coli* ATCC 25922 | Proteus mirabilis ATCC 12453 | *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 | *Candida albicans* ATCC 10231 |
| **BBL UROTUBE SXT** | | | | | | |
| • Milieu 1 | jaunâtre à jaune-vert | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies incolores ; milieu jaune- | + ; colonies jaunes ; milieu jaune | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert ; | + ; petites colonies blanchâtres ; |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | vert à vert | | milieu bleu-vert | milieu jaunâtre à bleu-vert |
| • Milieu 2 | rose | + ; colonies roses ; milieu rouge à rose | + ; colonies incolores à beiges ; milieu orange-marron | - | + ; colonies de couleur pâle à bleu-vert, avec ou sans fluorescence | - |
| • Milieu 3 | incolore à légèrement ambré | - | - | - | + | + |

- = aucune croissance ou traces de croissance ; (+) = faible croissance ; + = croissance bonne à importante
[a, b] Effectuer ces tests complémentaires avec la croissance issue du milieu 3. Pour la disponibilité de réactifs, voir **Matériaux non fournis**

## METHODE

### Matériaux fournis

**BBL UROTUBE 2s, BBL UROTUBE, BBL UROTUBE M, BBL UROTUBE E, BBL UROTUBE E. coli** ou **BBL UROTUBE SXT**
Produits contrôlés microbiologiquement.

### Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.
Pour les tests d'indole et de TDA sur le milieu 3 du **BBL UROTUBE E. coli** : Indole Dropper Reagent (n° réf. 261185) ou Indole DMACA Dropper Reagent (n° réf. 261187). Ferric Chloride Dropper Reagent (n° réf. 261190).
Pour les tests d'oxydase sur le milieu 3 du **BBL UROTUBE** : Oxidase Dropper Reagent (n° réf. 261181).

### Types d'échantillons

Ces produits conviennent à l'isolement et l'énumération de bactéries et de champignons à partir d'échantillons d'urine (provenant du jet urinaire principal ou d'un cathéter, ou prélevée lors d'une ponction vésicale sus-pubienne). Consulter **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE.**

### Prélèvement et préparation des échantillons

Respecter les techniques d'asepsie lors du prélèvement des échantillons. Utiliser les méthodes standard de prélèvement.[1,13]
Les échantillons d'urine doivent être frais ou ne pas être âgés de plus de 2 h. Ou alors, les échantillons d'urine peuvent être conservés au réfrigérateur (24 h au maximum) afin d'empêcher une croissance excessive des agents infectieux ou des contaminants avant l'ensemencement.[13]

### Mode opératoire du test

1. Examiner les surfaces de la gélose, sans ouvrir le tube. Ne pas utiliser de lames immergées présentant des signes de dessèchement, de contamination ou d'autres signes de détérioration.
2. Etiqueter le tube avec le nom du patient, le numéro de l'échantillon et la date de l'ensemencement.
3. Dévisser le bouchon et retirer la lame du tube plastique, en prenant soin de ne pas toucher aux surfaces de la gélose (Fig. 1). **Ne pas prélever d'échantillons d'urine à partir du tube BBL UROTUBE !**
4. Plonger brièvement la lame à trois reprises dans l'urine, en immergeant complètement les surfaces de la gélose (Fig. 2). Veiller à ne pas laisser la lame plus de 10 sec dans le liquide, car les composants du milieu risquent de se diluer et/ou le gel risque de se désolidariser de son support plastique. Si la lame ne peut pas être immergée car le volume d'urine est insuffisant, celle-ci peut être versée délicatement sur les surfaces de la gélose.
5. Maintenir le bout de la lame contre le rebord interne du tube, afin de permettre à l'excédent d'urine de s'égoutter (Fig. 3). Il est possible d'éliminer les dernières gouttes présentes sur l'extrémité de la lame avec un mouchoir en papier (Fig. 4).

6. Replacer délicatement la lame à l'intérieur de son tube en plastique et bien le reboucher.
7. Incuber le tube pendant 18 à 24 h entre 35 et 37 °C (Fig. 5) ou le transmettre à un laboratoire de bactériologie, pour traitement ultérieur. Noter que les tubes ensemencés doivent être acheminés jusqu'au laboratoire dans un délai de 24 h. Ne pas exposer les lames à des températures élevées, ni les congeler lors du transport.

Figure 1

Figure 2

Figure 3

Figure 4

Figure 5

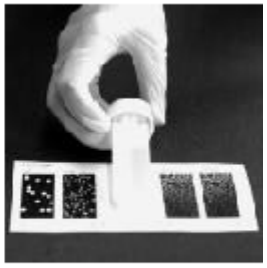


Figure 6

**Résultats et interprétation**
Après l'incubation, retirer la lame du tube afin de lire les résultats. Pour une estimation quantitative du nombre de colonies viables, comparer la croissance obtenue sur la CLED agar avec les photographies de référence fournies ci-dessous ; utiliser un éclairage suffisant lors de l'interprétation (Fig. 6). Une croissance agglomérée, due à un nombre de colonies viables supérieur à $10^6$/mL, peut être difficile à reconnaître dans la mesure où elle peut recouvrir uniformément toute la surface de la gélose. Dans ce cas, il peut être utile d'effleurer la surface avec une anse ou un écouvillon. L'apparition d'une croissance sur MacConkey Agar (milieu 2) indique la présence de bâtonnets à Gram négatif. Toute apparition de croissance sur le milieu 3 (s'il est disponible) indique la présence des groupes de microorganismes correspondants, en fonction du milieu et du type de lame utilisés. Une description détaillée de la croissance obtenue dans le milieu est fournie ci-dessous.
Ne pas essayer de déterminer le nombre de microorganismes viables qui se développent sur les faces 2 et 3, car les agents sélectifs contenus dans ces milieux sont susceptibles d'affecter la croissance.
Une fois un repiquage sur un milieu approprié effectué, toute croissance issue de l'un des milieux contenus sur les lames peut être utilisée pour exécuter des tests biochimiques ou de sensibilité supplémentaires.

- **CLED Agar (Milieu 1 sur tous les produits BBL UROTUBE) :**
  La CLED Agar permet le développement des bactéries à Gram positif et à Gram négatif et des levures. Une décoloration jaune du milieu indique une fermentation du lactose tandis qu'un milieu jaune-vert et vert signale la présence de non-fermentants du lactose.
  Les directives suivantes, ainsi que le guide d'interprétation (photographies) présenté à la fin de ce document, peuvent être utilisés pour l'interprétation du nombre des microorganismes obtenus sur CLED Agar :

| Compte de micro-organismes viables | Interprétation clinique |
|---|---|
| Inférieur à 10 000 bactéries par mL | Urine provenant du jet urinaire principal : Contamination. Des dénombrements faibles peuvent être significatifs chez les patients prétraités ou chez ceux atteints d'infections chroniques.<br>Urine obtenue par cathétérisation ou par ponction vésicale : Dans de tels cas, un nombre de bactéries inférieur à 10 000 par mL peut déjà indiquer une infection. |
| 10 000 à 100 000 bactéries par mL | Urine provenant du jet urinaire principal : Incertain. Il est recommandé de répéter le test car de telles quantités de bactéries surviennent dans les cas d'infections chroniques des voies urinaires, mais peuvent également être présentes en tant que contaminants dans l'urine provenant du jet urinaire principal. Des populations de bactéries de cet ordre peuvent être significatives chez les patients prétraités ou chez ceux atteints d'infections chroniques.<br>Urine obtenue par cathétérisation ou par ponction vésicale : Dans de tels cas, un nombre de bactéries inférieur à 10 000 par mL peut déjà indiquer une infection. |
| Supérieur à 100 000 bactéries par mL | Ces quantités élevées révèlent la présence d'une infection, quelle que soit la source de l'échantillon d'urine testé (y compris l'urine provenant du jet urinaire principal). La présence d'une forte concentration de leucocytes dans le culot urinaire peut alors confirmer ce diagnostic.<br>Chez la femme, un nombre de colonies bactériennes élevé peut survenir suite à une contamination externe (leucorrhée, vaginite) ; ce diagnostic est confirmé en présence d'une augmentation du nombre de cellules épithéliales pavimenteuses sans aucun accroissement du nombre de leucocytes dans le culot urinaire. |

- **MacConkey Agar (Milieu 2 sur tous les produits BBL UROTUBE) :**
  Tous les *Enterobacteriaceae* et certains non-fermentants (p. ex, *Pseudomonas aeruginosa*) se développent dans ce milieu. Une décoloration de couleur rose à rouge indique une fermentation du lactose, p. ex. avec *E. coli*, tandis que des colonies incolores, beiges ou ambrées, sur un milieu orange-brunâtre indiquent la présence de non-fermentants du lactose.

- Noter que le **BBL UROTUBE 2S** comporte deux faces et contient uniquement des CLED et MacConkey Agars.

- **Interprétation de la croissance sur le troisième milieu correspondant (Milieu 3)**
  Comme il a été stipulé ci-dessus, le troisième milieu dépend du type de lame utilisé :
  **BBL UROTUBE :** Toute croissance obtenue sur Cetrimide Agar doit être interprétée comme suit : des colonies fluorescentes, de couleur verte à jaune, indiquent la présence de *Pseudomonas aeruginosa.* Ce diagnostic peut être confirmé par un test d'oxydase positif (voir **Matériaux non fournis**). Si une croissance non fluorescente est observée dans ce milieu, il convient d'effectuer des tests supplémentaires, afin d'obtenir une identification complète.
  **BBL UROTUBE M :** Une croissance sur Malt Agar indique la présence de levures, p. ex. *Candida albicans*, ou d'autres champignons. Noter que certaines souches de levures nécessitent 42 à 48 h pour se développer complètement dans ces milieux. Peu fréquemment, certaines bactéries, comme des lactobacilles, peuvent se développer dans ce milieu. Par conséquent, il peut s'avérer utile d'effectuer une coloration de Gram sur la croissance obtenue dans ce milieu. Des tests supplémentaires sont nécessaires pour obtenir une identification complète.
  **BBL UROTUBE E :** L'apparition de colonies marrons à noires sur la Enterococcus Agar indiquent la présence d'*Enterococcus* spp., notamment. *Enterococcus faecalis*. Le développement de colonies incolores à grises est susceptible d'indiquer la présence de streptocoques, toutefois il convient de confirmer cette présomption.
  **BBL UROTUBE E. coli :** Si le milieu BGLU vire au jaune, cela indique qu'*Escherichia coli* ou d'autres bactéries positives à la bêta-glucuronidase sont présentes. Effectuer un test de l'indole à partir de la croissance jaune issue de ce milieu. Une réaction positive à l'indole

indique la présence d'*E. coli.* Si ce milieu présente une croissance incolore à beige, effectuer un test de TDA. Un test de TDA positif indique la présence de microorganismes appartenant au groupe *Proteus-Morganella-Providencia*.
Pour la disponibilité de réactifs à l'indole et au TDA, voir **Matériaux non fournis**. Pour l'exécution de ces tests supplémentaires, suivre le mode d'emploi fourni avec les réactifs.
**BBL UROTUBE SXT :** Ce milieu est utilisé afin de déterminer la sensibilité (ou la résistance) des bactéries isolées au triméthoprime/sulfaméthoxazole (SXT). L'absence de croissance dans ce milieu signale une sensibilité, tandis qu'une croissance importante est le signe d'une résistance au SXT. L'obtention d'une croissance plus réduite dans ce milieu, par comparaison à celle obtenue sur la CLED Agar (milieu 1), peut révéler la présence d'une culture mixte contenant au moins un microorganisme résistant au SXT.

Après utilisation, autoclaver ou incinérer tous les tubes usagés et tout autre matériel contaminé, avant de les éliminer. Pour plus d'informations, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**.

## CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

**BBL UROTUBE 2s, BBL UROTUBE, BBL UROTUBE M, BBL UROTUBE E, BBL UROTUBE E. coli** et **BBL UROTUBE SXT** conviennent pour effectuer le diagnostic d'infections des voies urinaires courantes à partir d'échantillons d'urine. Il a été établi que l'application de la méthode de la lame immergée avec des géloses CLED et MacConkey constituait un moyen aisé et efficace pour dénombrer les bactéries courantes (p. ex. *Enterobacteriaceae*), les autres bâtonnets à Gram négatif (tels que *Pseudomonas)*, les entérocoques, les staphylocoques et bien d'autres, présents dans l'urine.[1-8] L'utilisation d'un troisième milieu (si disponible), en plus de ces milieux standard, se révèle utile lorsque la présence de groupes spéciaux de microorganismes, susceptibles d'agir en tant qu'agents infectieux est présumée.[9-12]

Les échantillons d'urine utilisés avec ces systèmes et milieux ou d'autres, doivent impérativement avoir été prélevés selon les conditions d'asepsie, être frais (âgés de 2 h au maximum) ou avoir été conservés en réfrigération (24 h au maximum).[1,13]
Des conditions inappropriées de prélèvement d'urine, la conservation d'échantillons au-delà des limites spécifiées précédemment, des délais d'acheminement trop longs avant le traitement des lames ensemencées, ou leur exposition à des températures extrêmes, sont susceptibles d'engendrer un diagnostic erroné, voire même de rendre impossible tout diagnostic.[1,13]

Le diagnostic le plus exact en ce qui concerne les infections des voies urinaires, est obtenu à partir d'urine prélevée par ponction vésicale, car les microorganismes présents dans la flore urétrale normale peuvent contaminer les échantillons prélevés selon d'autres techniques.

Les bactéries exigeantes, comme les mycoplasmes, les chlamydiae, *Neisseria gonorrhoeae*, les mycobactéries ou *Gardnerella vaginalis* ne se développent pas dans les milieux présents sur ces types de lames immergées. Si ces microorganismes sont présumés être impliqués dans un cas d'infection des voies urinaires, il convient d'appliquer les techniques appropriées afin de les mettre en évidence.[1,13]
Certaines souches de streptocoques, en particulier celles du groupe *Streptococcus agalactiae* (groupe B), ne se développent pas suffisamment dans le milieu 1 (CLED Agar). Par conséquent, lorsque ces souches sont présumées être impliquées dans un cas d'infection des voies urinaires, il est recommandé d'effectuer une culture de l'urine dans une boîte de Pétri contenant une gélose au sang (p. ex. la **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**).

Les milieux déposés sur les lames immergées ne doivent pas être utilisés pour effectuer des tests de sensibilité à l'aide de la méthode de diffusion sur disque.

Bien qu'il soit possible de procéder à certains tests diagnostiques directement sur les milieux, il est nécessaire d'effectuer des tests biochimiques et, le cas échéant, immunologiques, portant sur des cultures pures pour aboutir à une identification complète. *E. coli* et les groupes *Proteus-Morganella-Providencia* constituent des exceptions, puisqu'il est possible de les identifier sur le milieu 3 (BGLU Agar) de **BBL UROTUBE E. coli** si les tests complémentaires recommandés

(indole, TDA) ont été réalisés. De même, *Pseudomonas aeruginosa* peut être identifiée directement sur le milieu 3 (Cetrimide Agar) de **BBL UROTUBE,** si des colonies fluorescentes verdâtres produisant une réaction positive à l'oxydase y sont observées.

La mise en place d'une thérapeutique adaptée nécessite parfois l'exécution de tests de sensibilité sur les microorganismes isolés. Tout développement de bactérie dans le milieu 3 (PDM Medium avec triméthoprime/ sulfaméthoxazole) de **BBL UROTUBE SXT** doit être interprétée comme une résistance des microorganismes à cet agent antimicrobien (SXT).

## REFERENCES


1. Gallien, R.1988. Mikrobiologische Diagnostik in der ärztlichen Praxis, G. Fischer Verlag , Stuttgart.
2. Ellner, P.D., and M.S. Papachristos. 1975. Detection of bacteriuria by dip-slide. Am. J. Clin. Pathol. 63: 516-521.
3. Guttmann, D. 1967. Dip-slide: an aid to quantitative urine culture in general practice. Br. Med. J. 3: 343-345.
4. McAllister, T.A., et al. 1973. Assessment of plane dipslide quantitation of bacteriuria. Nephron 11: 111-122.
5. Van Dorsten, J.P., and E.R. Bannister. 1986. Office diagnosis of asymptomatic bacteriuria in pregnant women. Am. J. Obstet. Gynecol. 155: 777-780.
6. Sandys, G.H. 1960. A new method of preventing swarming of Proteus sp. with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J. Med. Lab. Technol. 17:224-233.
7. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1965. Laboratory diagnosis of infection of the urinary tract in general practice by means of a dip-inoculum transport medium. Br. Med. J. 2:1286-1288.
8. Farmer III, J.J. 2003. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R.H. Yolken (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. King, E.O., M.K. Ward, and E.E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med. 44: 301.
11. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
12. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, an media: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Thomson, R.B. jr., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

## CONDITIONNEMENT

| N° réf. | Nom du produit | Taille de l'emballage |
|---|---|---|
| 212115 | **BBL UROTUBE E. coli** | 10 lames |
| 272805 | **BBL UROTUBE E** | 10 lames |
| 273007 | **BBL UROTUBE** | 10 lames |
| 273357 | **BBL UROTUBE** | 50 lames |
| 273008 | **BBL UROTUBE SXTBBL UROTUBE SXT** | 10 lames |
| 273171 | **BBL UROTUBE M** | 10 lames |
| 273249 | **BBL UROTUBE 2s** | 10 lames |

## INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

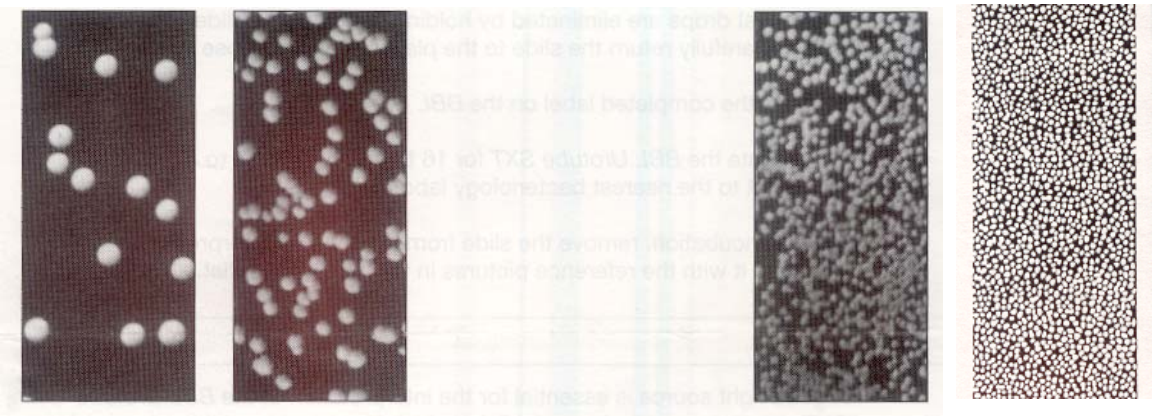
Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.

**BD Diagnostic Systems**
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

**BD Diagnostic Systems Europe**
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

BD, BD logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
Urotube is a trademark of Becton Dickinson GmbH.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
© 2003 Becton, Dickinson and Company

## GUIDE D'INTERPRÉTATION (CLED Agar, Milieu 1 uniquement)



| 1 000 (=$10^3$)/mL | 10 000 (=$10^4$)/mL | | 100 000 (=$10^5$)/mL | 1 000 000 (=$10^6$)/mL |
|---|---|---|---|---|
| Contamination: 1 000 – 10 000 (=$10^3$-$10^4$) CFU/mL | | Doute: >10 000 – <100 000 (=$10^4$-$10^5$) CFU/mL | | Infection: 100 000 – 1 000 000 (=$10^5$-$10^6$) CFU/mL |